ჯოხაძე მ.[1] , თუშურაშვილი პ.[1] , მურთაზაშვილი თ. , იმნაძე ნ.[2] , სივსივაძე კ.[2]

ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და 11-ნორტეტრაჰიდროქსიკარბომჟავას ანალიზი ბიოლოგიურ ობიექტში ქრომატომასსპექტრომეტრული (GC/MS) მეთოდით

1. ლევან სამხარაულის სახელობის სასამართლო ექსპერტიზის ეროვნული ბიურო, ქიმიურნარკოლოგიური ექსპერტიზის დეპარტამენტი; 2. თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი

კანაფის და მისგან მიღებული ნარკოტიკული საშუალებებით უკანონო ვაჭრობა ყველაზე ფართოდ გავრცელებულია მთელი მსოფლიოს მასშტაბით. 2014 წელს 5,200 ტონა ბალახი და 1000 ტონა კანაფის ფისი იქნა ამოღებული. კანაფი და მისგან მიღებული ნარკოტიკული საშუალებები რჩება ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ნარკოტიკად მთელი მსოფლიოს მასშტაბით. კანაფის ნარკოტიკულად აქტიურ ნივთიერებას წარმოადგენს ტეტრაჰიდროკანაბინოლი (ტჰკ) (4).

ტეტრაჰიდროკანაბინოლი ცხიმში კარგად ხსნადი ნივთიერებაა, ამიტომ კარგად აღწევს ადამიანის სხეულის ცხიმშემცველ ქსოვილებში, მათ შორის თავის ტვინში. ტეტრაჰიდროკანაბინოლი მეტაბოლიზმს განიცდის ღვიძლში და გარდაიქმნება 11 - ჰიდროქსი - ტჰკ და 11-ნორ-9-კარბოქსი-ტჰკ. აღნიშნული ნივთიერებები წარმოადგენს მეტაბოლიტებს და არ ახასიათებს ფსიქოტროპული აქტივობა. ტჰკ-ს მეტაბოლიტების ელიმინაცია პირველი დღეების განმავლობაში მიმდინარეობს უფრო სწრაფად, ვიდრე შემდეგ დღეებში (2, 3).

ბიოლოგიურ სითხეებში ნარკოტიკულ საშუალებების თვისობრივი ანალიზისათვის ფართოდ გამოყენება ქრომატოგრაფია მასსპექტრომეტრიით (1,5). იგი ქიმიური ნაერთების ანალიზის უზუსტესი მეთოდია, ამიტომ ბიოლოგიურ ობიექტებში ნარკოტიკულ ნივთიერებების კვლევის ქრომატო-მასსპექტრომეტრული მეთოდის შემუშავება სასამართლო ქიმიურ ექსპერტიზაში ფრიად აქტუალურია.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ბიოლოგიურ სითხეებში ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და მისი მეტაბოლიტების აღმოჩენის ქრომატო-მასსპექტრომეტრული (GC/MS) მეთოდის შემუშავება.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა ცოცხალი და გვამური პირებიდან აღებული შარდი.

კვლევის მეთოდი - ქრომატო-მასსპექტრომეტრი (GC/MS) წარმოადგენს ორი დამოუკიდებელი მოწყობილობის – გაზური ქრომატოგრაფისა და მასსპექტრომეტრის ტანდებს. ნივთიერებათა დაყოფა წარმოებს აირად მდგომარეობაში 30 მ სიგრძის კაპილარულ სვეტში, ხოლო დეტექტირება ერთ (MS)და/ ან ორ (MS/ MS) კვა დრუპოლის მქონე მასსპექტრომეტრებში.

მეთოდი დაფუძნებულია მასის მუხტთან (მ/ზ) თანაფარდობის განსაზღვრაზე. თითოეული ნივთიერება იონიზაციის შედეგად იშლება შემადგენელ კომპონენტებად, რაც იძლევა სხვადასხვა მასის და მუხტის მქონე იონების სპექტრს ე.წ. მას-სპექტრს. **2** 157 158 მას-სპექტრი ყველა ნივთიერებისათვის ინდივიდუალურია. საანალიზო

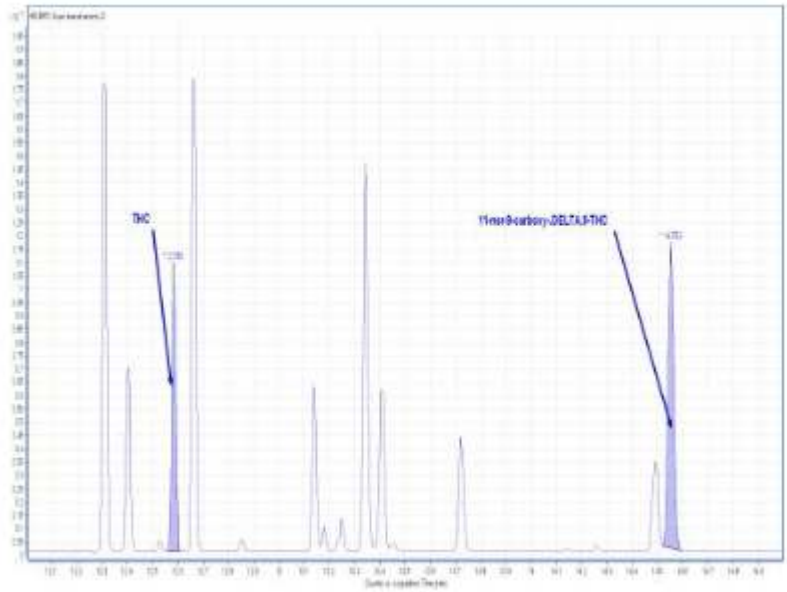
ობიექტის მას-სპექტრების მონაცემთა ბაზებთან შედარება ნივთიერებების იდენტიფიკაციის შესაძლებლობას იძლევა.

ექსპერიმენტული ნაწილი: ექსპერიმენტის შედეგად დავადგინეთ ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და მისი მეტაბოლიტის - 11-ნორ-ტჰკ-კარბოქსიმჟავას შემცველი ბიოლოგიური ობიექტის (შარდი) ჰიდროლიზის, სითხე-სითხე ექსტრაქციის და თვისებრივი ანალიზის ოპტიმალური პირობები: ინჟექტორის ტემპერატურა 250 C, ღუმელის ტემპერატურა 60^{0}C, ტრანსფერლაინის ტემპერატურა 310^0 C; ტემპერა ტურული გრადი ენტი - 60^0 C 1. 0 წთ; 60^{0}C®220^{0}C 12 წთ, 220^{0}C® 310^{0}C 15 წთ; ინჟექტორის მოცულობა 1 მკლ, სვეტის სიგრძე 30 მ, ფენის სისქე 250 მკმ. იონიზაცია წარმოებდა 70 ევ-ით. აირმატარებელი ჰელიუმი, აირის დინების სიჩქარე 1 მლ/წთ.

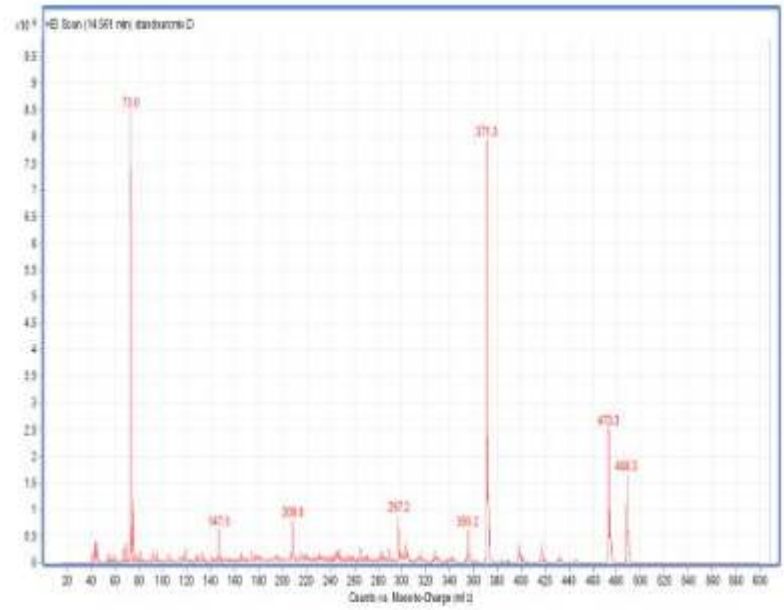
ტეტრაჰიდროკანაბინოლის(ტჰკ) და 11-ნორ-9ტეტრაჰიდროკანაბინოლ კარბოქსიმჟავას (11-ნორ9-ტჰკ-კარბოქსიმჟავა) დეტექტირებას ვახდენდით TIC (იონების სრული მონიტორინგი) და SIM(სელექტიური იონების მონიტორინგი) რეჟიმში, NIST მონაცემთა ბაზის გამოყენებით.

ბიოლოგიურ ობიექტებში საკვლევი ნივთიერების ქრომატოგრაფიული თვისებების გაუმჯობესების, ასევე აქროლადობის და მაღალ ტემპერატურაზე მდგრადობის მინიჭების მიზნით მივმართეთ დერივატიზაციას. სადერივატიზაციოდ შევარჩიეთ სილირება (BSTFA + 1% TMCS).

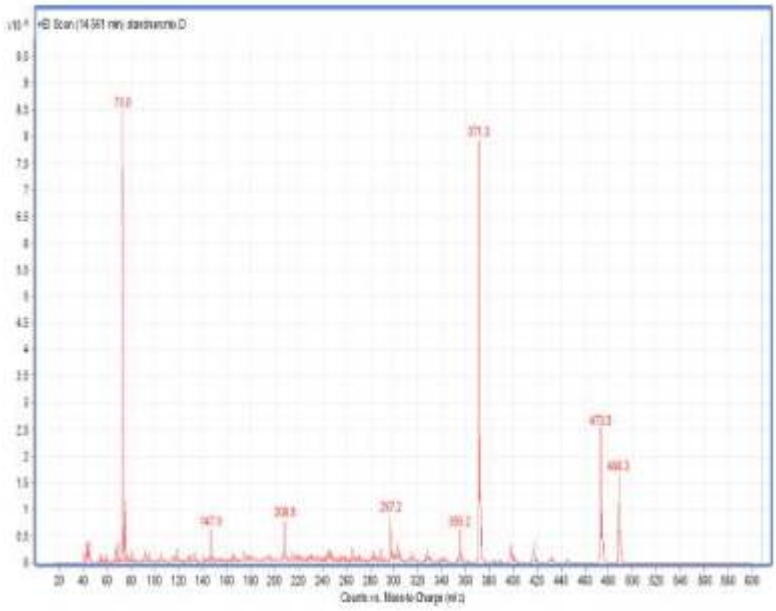
ამისათვის ვიალას, სადაც მოთავსებული იყო ამოქროლებული ბიოლოგიური ობიექტი, ვამატებდით 40 მკლ მასილირებულ რეაგენტს და 10 მკლ ეთილაცეტატს. ვხუფავდით, ვანჯღრევდით და ვდგამდით 70 C წინასწარ გაცხელებულ თერმოსტატში 30 წუთის განმავლობაში. მიღებული ქრომატოგრამები და მასსპექტრები მოცემულია სურ. 1-4.



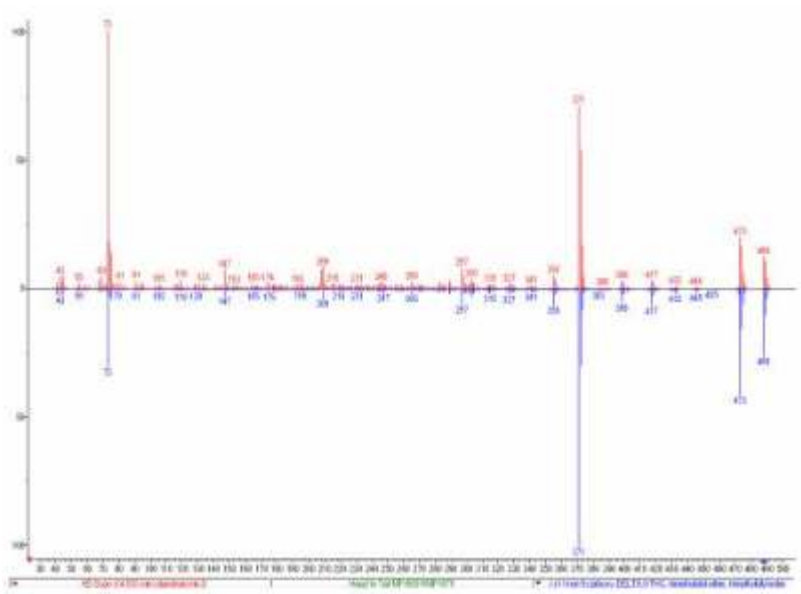
სურ. 1. ტჰკ-ს და 11-ნორ-9-ტჰკ-კარბოქსიმჟავას შემ- ცველი შარდის გაზური ქრომატოგრამა



სურ. 2. ტეტრაჰიდროკანაბინოლის მასსპექტრი



სურ. 3. 11-ნორ-9-ტჰკ-კარბოქსიმჟავას მასსპექტრი



სურ.4. 11-ნორ-9-ტჰკ-კარბოქსიმჟავას მასსპექტრის მონაცემთა ბაზასთან შედარება

შედეგები: ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და მისი მეტაბოლიტის 11-ნორ-9-ტეტრაჰიდროკანაბინოლ კარბოქსიმჟავას ექსტრაქცია შარდიდან მოხდა მყარფაზური ექსტრაქციით. ექსპერიმეტის შედეგად შერჩეულ იქნა ბიოლოგიური სითხის ოპტიმალური მოცულობა, ბუფერის შემადგენლობა და pH, სვეტის კონდიცირების პირობები, მაელუირებელი გამხსნელები და მათი თანაფარდობა. როგორც [11] სურათიდან ჩანს გაზური ქრომატოგრაფიული მეთოდი უზრუნველყოფს ბიოლოგიურ ობიექტში ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და მისი მეტაბოლიტის 11ნორ-9-ტეტრაჰიდროკანაბინოლ კარბოქსიმჟავას ერთმანეთისაგან სრულყოფილ დაყოფას. ქრომატოგრამაზე მათი შეკავების დროებია 12.5 წთ (ტჰკ) და 14.5 წთ (11-ნორ-9-ტჰკ). GC/MS მეთოდით შესაძლებელია ტჰკ და მისი მეტაბოლიტის თვისობრივი ანალიზი. დერივატიზირებული ნიმუშები სტაბილურია და გამოსადეგია GC/MS ანალიზისათვის, ბნელ ადგილას 2 დღე-ღამის განმავლობაში 4^0 C შენახვის პირობებში.

დასკვნები: დადგენილ იქნა ბიოლოგიური ობიექტიდან ტეტრაჰიდროკანაბინოლის და მისი მეტაბოლიტის 11-ნორ-9-ტეტრაჰიდროკანაბინოლ კარბოქსიმჟავას იზოლირების ოპტიმალური პირობები მყარ-ფაზური ექსტრაქციის საშუალებით.

ლევან სამხარაულის სახელობის სასამართლო ექსპერტიზის ეროვნული ბიუროს ქიმიურ-ნარკოლოგიური ექსპერტიზის დეპარტამენტის ბაზაზე დამუშავებულია ტჰკ და 11-ნორ-9-ტჰკ-ის თვისებით-რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდიკა გაზური ქრომატო-მასპექტრომეტრირების მეთოდის გამოყენებით. აღნიშნული მეთოდები ხასიათდება მაღალი მგრძნობელობით და სპეციფიკურობით.

ლიტერატურა:

1. C. Clinton Frazee III, Michael Kiscoan, Uttam Garg. Quantitation of Total 11-Nor-9-Carboxy-Delta 9-Tetrahydrocannabinol in Urine and Blood Using Gas ChromatographyMass Spectrometry (GC-MS). Clinical Applications of Mass Spectrometry Volume 603 of the series Methods in Molecular Biology, 2012, pp 137-144

2. Goulle JP, Saussereau E, Lacroix C. Delta-9-tetrahydrocannabinol pharmacoki neti cs. Ann Pharm Fr.2008;66:232–244.

3. Karschner EL, Schwilke EW, Lowe RH, Darwin WD, Herning RI, Cadet JL, et al. Implications of plasma Delta9tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxy-THC concentrations in chronic cannabis smokers. J Anal Toxicol. 2009;33:469–477

4. Röhrich J, Schimmel I, Zörntlein S, Becker J, Concentrations of delta9-tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxytetrahydrocannabinol in blood and urine after passive exposure to Cannabis smoke in a coffee shop. J Anal Toxicol. 2010 May;34(4):196-203.

5. Rebecca Andrews, Sue Paterson. A validated method for the analysis of cannabinoids in post-mortem blood using liquid–liquid extraction and two-dimensional gas chromatography–mass spectrometry. Forensic science internation- al 2012, volum 222, Issues 1-3, Pages 111-117

Jokhadze M.[1] , Tushurashvili P.[1] , Murtazashvili T. , Imnadze N.[2] , Sivsivadze K.[2]

EVELOPMENT OF GAS CHROMATOGRAPHY-MASSSPECTROMETRIC (GC-MS) METHOD OF DETERMINATION OF TETRAHYDROCANABINOL AND 11-NORTERAHYDROCANABINOL CARBOXYACIDE IN BIOLOGICAL FLUIDS

LEPL LEVAN SAMKHARAULI NATIONAL FORENSIC BUREAU; TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICALAND TOXICOLOGICAL CHEMISTRY

In chemichal-toxicological analysis was used the method of Gas Chromatography-Mass Spectrometry. It is considered as one of the most exact method of analysis of chemichal substances. Respectively utilization of this method in determination of widely spread narcotic in biological fluids is important task.

As a result of experimental work, was determined optimal conditions of analysis: temperature of injector, fuel and transferline, the thermal gradient, volume of injection, length of the column, thickness of the layer, gass-wearing speed of mobile phase.

Detection of Desomorphine was carried by TIC and SIM regime, under the NIST data base. For derivatisation was selected acitilation (acetate anhydride), metilation and sylitation were performed.

The optimal sylitation of tetrahydrocanabinol and 11nor-terahydrocanabinol carboxyacide was performed by BSTFA. In the current work is presented the chromatograme and mass-specter of tetrahydrocanabinol and 11-nor-terahydrocanabinol carboxyacide detected in urine.